

Institut National de la Recherche Agronomique
Centre de Toulouse – 31326 CASTANET TOLOSAN

CAHIER DES CLAUSES TECHNIQUES PARTICULIERES (C.C.T.P.)

Personne publique contractante :

INRA, Centre de Toulouse
24 chemin de borde rouge - Auzeville
CS 52627
31326 CASTANET-TOLOSAN Cedex

OBJET : Acquisition d'une station QPCR pour l'analyse de l'expression de gènes, le génotypage de SNP, quantification d'événements rares, quantification d'ADN et dosage Picogreen en vue de séquençages NGS.

SOMMAIRE

ARTICLE 1 – CONTEXTE GENERAL

1.1 Présentation de l'INRA

L'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) est un organisme de recherche scientifique publique finalisée, placé sous la double tutelle du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche et du ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture, et de la Pêche.
Ses recherches concernent les questions liées à l'agriculture, à l'alimentation et à la sécurité des aliments, à l'environnement et à la gestion des territoires, avec un accent tout particulier en faveur du développement durable.
Ses missions générales sont :

- de produire et de diffuser des connaissances scientifiques ;
- de concevoir des innovations et des savoir-faire pour la société ;
- d'éclairer, par son expertise, les décisions des acteurs publics et privés ;
- de développer la culture scientifique et technique et participer au débat science/société ;
- de former à la recherche et par la recherche.

1.2 Présentation de GeT-PlaGe

Cette plateforme est intégrée au sein de l'Unité Mixte de Recherche Génétique, Physiologie et Système d'élevage du Centre de Recherche INRA de Toulouse. La plateforme est depuis 2010 une infrastructure d'avenir dans le cadre du programme France Génomique. Elle est labélisée IBiSA (Infrastructures en Biologie Sante et Agronomie) depuis 2008 et est certifiée ISO9001-2008. Elle fait partie des plateformes stratégiques de l'INRA (CNOC : Commission Nationale des Outils Collectifs). GeT-PlaGe a un partenariat historique avec la plateforme bioinformatique.
Elle a pour vocation de permettre l'accès de la communauté scientifique nationale à des équipements performants, et de favoriser les transferts de savoir-faire dans les domaines de l'analyse du génome et de la génomique fonctionnelle. Dans le cadre du projet France-Génomique, elle fait partie des 9 plateformes (dont le CNS et le CNG) identifiées comme point d'appui national des équipes de recherche dans le domaine de la génomique et de la transcriptomique : différentes technologies de puces à ADN, PCR quantitative haut débit en microfluidique, technologie de génotypage adaptées à différents débits, séquenceurs classiques et nouvelles générations.

La plateforme GeT-PlaGe travaille sur le Génotypage de marqueurs génétiques, le séquençage sanger ou nouvelle génération, l'analyse de l'expression des gènes en temps réel, l'extraction automatique d'ADN génomique, la mise à disposition de robots de pointe, le conseil et l'expertise dans le domaine de la génomique.
La montée en puissance du séquençage nouvelle génération pour le reséquençage de génome et la caractérisation de la variabilité génétique, l'étude du transcriptome, de la méthylation de l'ADN, des interactions protéines-ADN (ChIPSeq), des études de métagénomique vont amener la plateforme à acquérir de nouvelles technologies dans le

domaine du séquençage très haut débit et séquençage de 3ème génération. La plateforme continuera aussi d'investir dans le génotypage haut débit.

ARTICLE 2 – INTERET SCIENTIFIQUE ET DEFINITION DES BESOINS

L'acquisition sur la plateforme Génomique toulousaine d'une station QPCR sera principalement destinée au dosage d'acides nucléiques en solution, l'analyse de l'expression de gènes , le génotypage de SNP, éventuellement quantification d'événement rares et dosage Picogreen en vue de séquençages.
Cet automate devra répondre à tous les besoins (divers matériels biologiques sous différents états et divers fluorophores) de la communauté scientifique publique et privée dans les domaines de la santé, de l'animal, et du végétal.
Cet instrument complètera la chaîne d'automatisation déjà en place sur la plateforme (ABI7900, LC480, ABI3730, ABI3100, ABI2720, ABI9700, Biomark, …) pour la production de séquences NGS, pour la production de génotypes à moyen débit, et pour l'analyse de l'expression de gènes.
Des sondes de type Taqman et Kaspar devront pouvoir être utilisée ainsi que des intercalant de type picogreen.

ARTICLE 3 – CAHIER DES CHARGES

3.1 Objet du marché

Le présent marché a pour objet l'acquisition, la livraison, l'installation, la mise en service d'un appareil de QPCR ainsi que la formation du personnel à l'utilisation de ce matériel.

3.2 Forme de la réponse

Chaque fournisseur pourra répondre, le candidat fournira un dossier complet comprenant :

- Devis détaillé avec les caractéristiques techniques du matériel ;
- Délais de livraison ;
- Un schéma du matériel ainsi que les caractéristiques d'encombrement de celui-ci ;
- Les conditions de raccordement électrique des éléments fournis ;
- Les conditions de fonctionnement (température…) ;
- Les informations stockées, leur format ainsi que la documentation de la programmation des protocoles ;
- Les protocoles validés sur l'instrument : programmation détaillée et solutions utilisées ;
- Une offre de prix des consommables plastiques spécifiques de l'automate ;
- Les modalités de maintenance ;
- Un planning des interventions prévues ;
- Les modalités d'information concernant les mises à jour des logiciels ;
- Délai d'intervention du service après-vente en cas de panne ;
- Un devis pour la maintenance ;
- Un manuel d'utilisation aux formats papier et informatisés ;

- Un manuel contenant les consignes de sécurité aux formats papier et informatisé ;
- Le matériel livré devra bénéficier d'une garantie pièces, main d'œuvre et déplacements selon les conditions décrites dans le présent document (article 3, paragraphe 3.6) ;
- Une proposition de solution pour la formation du personnel à l'utilisation du matériel comme décrit à l'article 3, paragraphe 3.5.

3.3 Caractéristiques techniques

La station devra permettre:

- L'analyse de plusieurs 10aine d'échantillons en parallèle sur plusieurs 10aine de gènes.
- Les volumes réactionnels devront être compris entre 5 et 20 µl.
- Le spectre des fluorophores qu'il est possible d'utiliser devra être très large : FAM, TET, VIC, JOE, NED, TAMRA, ROX, LCgreen, Sybrgreen, …..
- Le paramétrage de tous les paramètres (cycles) d'amplification possibles (nbre de cycle, températures, rampe….)
- L'accès aux données brutes doit être possible
- A minima les fichiers résultats seront en format .txt

Les logiciels fournis avec la machine doivent être capables donner les valeurs brutes mais aussi de les transformer en valeurs de Ct, en quantité de fragments et en genotype.

Ces expériences doivent être réalisables dans différents types de plaques :

  - o Plaques 384 puits en polypropylène et polystyrène transparentes ou opaques, plus ou moins rigides
  - o Plaques 96 puits en polypropylène et polystyrène transparentes ou opaques, plus ou moins rigides

La traçabilité des plaques lors de la manipulation doit être continue et suivie à l'aide de codes-barres.

3.3.1 Contraintes qualité

- Reproductibilité et qualité des amplifications
- L'absence de contamination
- Reproductibilité et qualité de lecture
- Fiabilité des volumes réactionnels

- % de Données manquantes (doit être inférieur à 1%) par rapport à des données déjà validées
- Reproductibilité Intra et Inter plaque et avec une autre machine du même type
- Accessibilité aux données brutes quelques soient les applications
- Pouvoir faire des courbes de dissociation

De plus, l'instrument ne devra pas présenter plus de un problème machine par mois et plus de un problème logiciel par mois. Pendant la phase de validation (1 mois) la société s'engage à intervenir dans les 48 h en cas de problème machine.
Ces spécifications seront validées par le fournisseur à l'installation de la machine dans les locaux. Le fournisseur devra préciser la technique utilisée pour valider ces données.

Afin de s'assurer de la reproductibilité des expériences en conditions réelles (en plaques) deux autres tests devront être réalisés au cours de l'installation avec l'ABI7900 déjà présent sur la plateforme.

3.3.2 Description matériel

Contraintes générales

- La machine doit être ouvert pour permettre l'adaptation des divers protocoles manuels (kit commerciaux ou solutions « maison ») utilisés en routine dans les laboratoires.
- La machine doit être multiutilisateurs : interface de programmation, d'enregistrement des code barre et de lancement de la manipulation simples et sécurisés.

La société sera le seul point de contact pour le SAV.

En option, les possibilités et le coût :
- Lecteur code-barres 2D
- Extension de garantie

3.3.3 Validation du matériel

Analyse d'expression de gènes

Sont présentés ci après les tests biologiques qui seront réalisés pour valider l'application de PCR quantitative.

La validation sera réalisée en utilisant une matrice d'ADN de phage Lambda à différentes concentrations ainsi qu'un mélange de Primer (Primer cocktail) provenant des kits NGS Illumina. Les réactions seront réalisées en utilisant un kit master mix standard de chez Life Technologies. L'ensemble des réactions seront déposées dans une plaque et dosé sur 40 cycles de PCR. Cette plaque comprendra aussi des puits contenant tous les réactifs

nécessaires à la réaction de PCR sauf la matrice ceci nous permettant de vérifier les contaminations éventuelles.

Reproductibilité des dosages :

La même expérience sera réalisée une deuxième fois avec les mêmes échantillons. Le dépôt des échantillons sera fait dans des puits différents de la première plaque. La différence entre les deux dosages devra être inférieure ou égale à 0.5Ct en valeur brute.

La même expérience sera réalisée en parallèle sur l'ABI7900 déjà présent sur la plateforme.

Contraintes qualité :

3 points seront à valider : qualité des amplifications
qualité des réplicats
correlation entre les différents dosages
Absence de contamination

3. 4 Livraison sur site

Le matériel sera installé et mis en service sur la Plateforme Génomique :

Plateforme Génomique
Génopole Toulouse/Midi-pyrénées
INRA, 24 Chemin de Borde Rouge - Auzeville
CS 52627
31326 Castanet Tolosan cedex

La livraison interviendra au plus tard à la mi-novembre. Elle fera l'objet d'un PV établi par l'INRA.
La mise en service par le titulaire interviendra dans un délai maximum de 8 jours à compter de la date de livraison. Elle fera l'objet d'un PV établi par l'INRA.
L'offre doit inclure la livraison, l'installation, la mise en service, la configuration du matériel.

3.5 Formation du personnel de la plateforme

Une proposition de formation du personnel à l'utilisation du matériel sera proposée et chiffrée. Celle-ci interviendra après la mise en service. Cette formation s'effectuera sur site et formera le personnel à l'utilisation des instruments et du logiciel d'acquisition et de pilotage (une intervention pour 8 personnes). Cette formation aura pour objet de permettre au personnel concerné d'assurer :

- La mise en fonctionnement de l'ensemble du système : robot, ordinateur et logiciel de pilotage ;

- La conduite des appareils et du logiciel d'acquisition ;
- L'entretien régulier du matériel ;
- Le traitement des résultats.

La formation fera l'objet d'un PV intégré dans le PV d'admission..

3.6 Garantie et maintenance

Offre de base : Pour cet équipement, la garantie contractuelle comprend pièces, main d'œuvre et déplacements sur une période de un an.

Option 1 : Le fournisseur devra proposer une extension de garantie pièces, déplacement et main d'œuvre d'une année supplémentaire.
Option 2 : Le fournisseur devra fournir un devis ou une proposition commerciale indiquant les tarifs appliqués, au jour de la proposition, pour des visites préventives et correctives sur le site au-delà de la période des deux ans.

3.7 Admission du matériel

L'admission de l'équipement se fera dans un délai maximum de 10 jours après la mise en service du matériel. L'admission fera l'objet d'une décision établie par l'Inra. La procédure validera le bon fonctionnement du matériel.

Validation des protocoles (cf 3.3)
Tous les protocoles prévus doivent être validés dans les conditions décrites pour valider l'équipement.
Pour les conditions détaillées se référer aux chapitres 2 = conditions préalables à l'achat, 3 = cahier des charges des protocoles et du matériel : contraintes générales, contraintes qualité.

Admission de l'équipement
Le matériel ne recevra l'admission qu'après l'exécution réussie des protocoles prévus dans les conditions décrites.